

課題番号 : F-14-KT-0017
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : キネシンモータータンパク質固定のためのナノピラーの作製
Program Title (English) : Nanopillar fabrication for immobilization of kinesin motor proteins
利用者名(日本語) : 安藤 駿、横川 隆司
Username (English) : S. Ando, T. Yokogawa
所属名(日本語) : 京都大学大学院工学研究科
Affiliation (English) : Graduate School of Eng., Kyoto Univ.

1. 概要(Summary)

ナノスケールにおける生体分子の操作において、モータータンパク質を用いる方法が提案されている。しかし、*in vitro* で再構成した分子系では、微小管はキネシンコート基板上をランダムな方向に動く。これは、微小管の先端が常にブラウン運動にさらされながら次に結合するキネシン分子を探し、結合した分子の位置によってその後の運動方向が決定されるからである。そこで、我々の研究グループでは微小管先端に対して、積極的に電界によるバイアスを与えることで運動方向を制御する手法を提案してきた。本研究課題では、基板上に固定するキネシンの分子間隔を制御することで、均一電界中においても運動方向を個別に制御することを可能にするために、キネシン分子の間隔を制御する手法を検討した。

2. 実験(Experimental)

・利用した主な装置

- A1 高速高精度電子ビーム描画装置
- A4 高速マスクレス露光装置
- B9 磁気中性線放電ドライエッチング装置

・実験方法

Si 基板上に電子線レジストを塗布し、電子線描画装置と熱蒸着装置を用いて直径 100 nm 程度の金のピラー構造を作製した。間隔は、300-500 nm と変化させた。この金のピラー構造を作製した基板を用いてフローセルを作製して、以下の溶液導入、タンパク質の固定、アッセイ実験をおこなった。Self-Assembled Monolayer (SAM)を用いて金にはキネシン分子を特異的に付加するためのピオチンを導入し、シリコン基板には Polyethylene glycol (PEG)によってタンパク質の非特異吸着を防止した。その後、微小管を導入してキネシン分子の間隔を測定した。

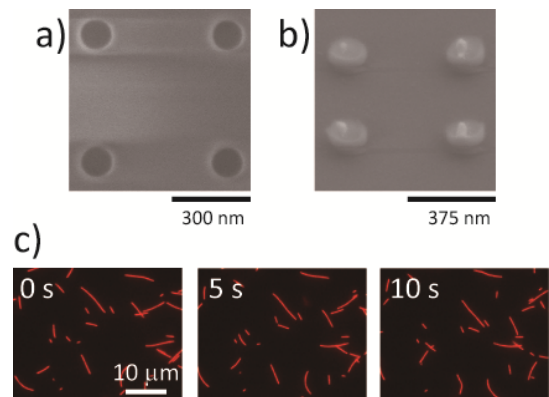


Fig. 1 SEM images of a) EB resist pattern and b) Au nanopillars. c) Microtubules driven by kinesin motors.

3. 結果と考察(Results and Discussion)

Fig. 1a に作製したレジスト構造, Fig. 1b に金のピラー構造の SEM 写真を示す。設計値は直径 100 nm, 間隔 500 nm であったが、実測値で直径 103 nm, 間隔 501 nm となった。この基板を用いて微小管の運動アッセイをおこなった様子を Fig. 1c に示す。その結果、キネシンの分子間隔は 431-473 nm と測定できた。よって、ピラー上に設計通り分子を固定することができた。

4. その他・特記事項(Others)

優秀ポスター賞: 安藤 駿, 磯崎 直人, 新宅 博文, 小寺 秀俊, 横川 隆司, "微小管の運動方向制御に向けた電気泳動移動度及びキネシン間距離の制御," 第 31 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 21pm23-PS94, 島根, 2014 年 10 月 20-22 日。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 安藤 駿他(同上)